

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成16年12月24日(2004.12.24)

【公表番号】特表2004-522402(P2004-522402A)

【公表日】平成16年7月29日(2004.7.29)

【年通号数】公開・登録公報2004-029

【出願番号】特願2001-500766(P2001-500766)

【国際特許分類第7版】

C 1 2 N	15/09
A 6 1 K	38/00
A 6 1 K	39/395
A 6 1 K	48/00
C 0 7 K	14/47
C 0 7 K	16/18
C 0 7 K	19/00
C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10
C 1 2 P	21/02
C 1 2 Q	1/02
G 0 1 N	33/53
G 0 1 N	33/566
// C 1 2 P	21/08

【F I】

C 1 2 N	15/00	Z N A A
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	48/00	
C 0 7 K	14/47	
C 0 7 K	16/18	
C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 Q	1/02	
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/566	
C 1 2 N	5/00	A
A 6 1 K	37/02	
C 1 2 P	21/08	

【手続補正書】

【提出日】平成14年1月29日(2002.1.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 5 2 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 5 2 0】

実施例 138：ヒト PRO1384 をコードする cDNA クローンの単離

上述の実施例 1 に記載したように、*phrap* を用いて他の EST 配列に対してコンセンサス DNA 配列を構築した。このコンセンサス配列を DNA54192 と命名する。DNA54192 コンセンサス配列に基づき、1) 対象とする配列を含む cDNA ライブライアリを PCR により同定するために、また 2) PRO1384 に対する全長コード配列のクローンを単離するためのプローブとしての使用のために、オリゴヌクレオチドを合成した。PCR プライマー（正方向及び逆方向）を合成した：

正方向 PCR プライマー 5' - T G C A G C C C C T G T G A C A C A A A C T G G - 3' (配列番号：425)

逆方向 PCR プライマー 5' - C T G A G A T A A C C G A G C C A T C C T C C C A C - 3' (配列番号：426)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリッド形成プローブは、次のヌクレオチド配列：ハイブリッド形成プローブ

5' - G G A G A T A G C T G C T A T G G G T T C T T C A G G C A C A A C T T A A C A T G G G A A G - 3' (配列番号：27)

を持つ DNA54192 配列から作成した。

全長クローンの供給源に対して数種のライブライアリをスクリーニングするために、ライブライアリからの DNA を、上で同定した PCR プライマー対での PCR 増幅によりスクリーニングした。次いで、ポジティブライブライアリを、プローブオリゴヌクレオチド及び PCR プライマーの一方を用いて PRO1384 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用した。cDNA ライブライアリの作成のための RNA はヒト胎児肝臓から単離した。

上述のようにして単離したクローンの DNA 配列決定により、（ここで DNA71159 - 1617 [Fig 305、配列番号：423] と命名される） PRO1384 に対する全長 DNA 配列と PRO1384 に対する誘導タンパク質配列が得られた。

PRO1384 の全コード配列を Fig 305 (配列番号：423) に示す。クローン DNA71159 - 1617 は、ヌクレオチド位置 182 - 184 に見かけの翻訳開始部位を有し、ヌクレオチド位置 869 - 871 に見かけの停止コドンを有する单一のリーディングフレームを含む。予測されたポリペプチド前駆体は 229 アミノ酸長である。Fig 306 に示した全長 PRO1384 タンパク質は約 26,650 ダルトンの見積もり分子量と約 8,76 の pI を有する。さらなる特徴は、アミノ酸約 32 - 57 の I I 型膜貫通ドメイン、およびアミノ酸約 68 - 71、120 - 123、および 134 - 137 の潜在的な N - グリコシル化部位を含む。

Fig 306 (配列番号：424) に示した全長配列の WU-BLAST2 配列アライメント分析法を使用しての Dayhoff データベース（バージョン 35.45 SwissProt 35）の解析により、PRO1384 アミノ酸配列と次の Dayhoff 配列：AF054819_1, HS AJ1687_1, AF009511_1, AB010710_1, GEN13595, HS AJ673_1, GEN13961, AB005900_1, LECH_CHICK, AF021349_1, 及び NK13_RAT の間の相同性が明らかになった。

クローン DNA71159 - 1617 は ATCC に寄託され、ATCC 寄託番号 203135 が付されている。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0578

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0578】

実施例 177：ヒト PRO361 をコードする cDNA クローンの単離

上記実施例 1 に記載したように *phrap* を用いて他の EST 配列に対してコンセンサス DNA 配列を組み立てた。このコンセンサス配列を、ここで DNA40654 と命名する

。D N A 4 0 6 5 4 コンセンサス配列に基づいて、1) P C Rにより対象とする配列を含むc D N A ライブライアリを同定するため、及び2) P R O 3 6 1 の全長コード配列のクローンを単離するプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

次のように正方向及び逆方向P C Rプライマーを合成した：

正方向P C Rプライマー 5' - A G G G A G G A T T A T C C T T G A C C T T T G A
A G A C C - 3' (配列番号：528)

正方向P C Rプライマー 5' - G A A G C A A G T G C C C A G C T C - 3' (配列番号：529)

正方向P C Rプライマー 5' - C G G G T C C C T G C T C T T T G G - 3' (配列番号：530)

逆方向P C Rプライマー 5' - C A C C G T A G C T G G G A G C G C A C T C A C -
3' (配列番号：531)

逆方向P C Rプライマー 5' - A G T G T A A G T C A A G C T C C C - 3' (配列番号：532)

さらに、以下のヌクレオチド配列を持つ合成オリゴヌクレオチドハイブリッド形成プローブをコンセンサスD N A 4 0 6 5 4 配列から作成した。

ハイブリッド形成プローブ

5' - G C T T C C T G A C A C T A A G G C T G T C T G C T A G T C A G A A T T G
C C T C A A A A G A G - 3' (配列番号：427)

全長クローンの供給源について幾つかのライブライアリをスクリーニングするために、ライブライアリからのD N Aを上で同定したP C Rプライマー対の一方でのP C R增幅によりスクリーニングした。次いで、ポジティブライブライアリを、プローブオリゴヌクレオチドを用いてP R O 3 6 1 遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。c D N A ライブライアリー作成のためのR N Aは、ヒト胎児腎臓組織から単離した。

上記のように単離したクローンのD N A配列決定により、P R O 3 6 1 の全長D N A配列 [ここではD N A 4 5 4 1 0 - 1 2 5 0と命名] (配列番号：514) 及びP R O 3 6 1 の誘導タンパク質配列が得られた。

D N A 4 5 4 1 0 - 1 2 5 0 の全ヌクレオチド配列をF i g 3 2 7 (配列番号：514) に示す。クローンD N A 4 5 4 1 0 - 1 2 5 0 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置226 - 228に見かけの翻訳開始部位を持ち、ヌクレオチド位置1519 - 1521の停止コドンで終端する (F i g 3 2 7)。予測されるポリペプチド前駆体は431アミノ酸長である (F i g 3 2 8)。F i g 3 2 8に示した全長P R O 3 6 1 タンパク質は約46,810ダルトンの推定分子量及び約6.45のp Iを有する。また、膜貫通ドメイン (アミノ酸380 - 409) 及びアルギナーゼタンパク質ファミリーに典型的な配列 (アミノ酸3 - 14及び39 - 57) を含む興味ある領域がF i g 3 2 8に示されている。クローンD N A 4 5 4 1 0 - 1 2 5 0 はA T C Cに寄託され、A T C C 寄託番号209621が付与された。

全長P R O 3 6 1 ポリペプチドのアミノ酸配列の分析により、その部分がムチン及び/又はキチナーゼタンパク質と有意な相同性を有していることが示唆され、P R O 3 6 1 が新規なムチン及び/又はキチナーゼタンパク質でありうることを示している。